NRK-EGFP2-Nup50

500726

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celična linija NRK-EGFP2-Nup50 je stabilna klonska celična linija, pridobljena iz celic normalnih ledvic podgan (NRK). Ta celična linija je bila ustvarjena s transfekcijo krožnega plazmida, ki vsebuje gen, ki kodira fuzijski protein izboljšanega zelenega fluorescenčnega proteina (EGFP) in nukleoporina 50 (Nup50), čemur je sledila selekcija odpornosti na zdravila. Tako približno 50 % celic izraža fuzijski protein EGFP3-Nup50, kar omogoča vizualizacijo in sledenje Nup50 v celičnem okolju.
Nup50 je ključna sestavina kompleksa jedrskih por, ki je odgovoren za uravnavanje prenosa molekul med jedrom in citoplazmo. Oznaka EGFP3 omogoča slikanje živih celic in druge tehnike, ki temeljijo na fluorescenci, za preučevanje lokalizacije, dinamike in interakcij Nup50. Kljub temu da gre za stabilno celično linijo, celice NRK-EGFP2-Nup50 kažejo določeno variabilnost, kar kaže na različno raven izražanja fuzijskega proteina EGFP3-Nup50 med celicami.
Ta celična linija je še posebej dragocena za raziskave, usmerjene v nukleocitoplazemski transport, dinamiko kompleksa jedrskih por in funkcionalno vlogo Nup50 v različnih celičnih procesih. Celice NRK-EGFP2-Nup50 so primerne za vrsto eksperimentalnih pristopov, vključno z obnovitvijo fluorescence po fotobeljenju (FRAP), fluorescenčno korelacijsko spektroskopijo (FCS) in drugimi naprednimi mikroskopskimi tehnikami. Te študije lahko omogočijo vpogled v molekularne mehanizme jedrskega transporta in prispevajo k razumevanju bolezni, povezanih z motnjami v delovanju jedrskega transporta, kot so nekateri raki in nevrodegenerativne motnje.

Tkivo	Ledvice

Sinonimi

- NRK EGFP2-Nup50

RAZVRSTITEV

Organizem	Podgana
Lastnosti rasti	Pripadnik
Stopnja biološke varnosti	1

ZNAČILNOSTI

Morfologija	Fibroblastom podobne celice s fusiformno obliko

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

NRK-EGFP2-Nup50 (kataloška številka Cytion 500726)

Davčna identifikacijska številka NCBI	10116
Cellosaurus	CVCL_AV93
Vlagatelj	Laboratorij Ellenberg (EMBL)

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Izraženi receptorji

Epidermalni rastni dejavnik (EGF), aktivnost, ki spodbuja razmnoževanje (MSA)

Ekspresija beljakovin

EGFP3-Nup50

Izdelki

NUP50 (nukleoporin 50)

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišču dodajte 10 % FBS, 0,5 mg/ml G418

Reagenca za disociacijo	Accutase

Preusmeritev v drugo kulturo

Zavrzite staro gojišče in celice sperite s PBS. Dodajte sveže pripravljeno 0,025 % raztopino tripsina/0,02 % EDTA, segreto na 37 stopinj Celzija, in počakajte, da se celice ločijo, kar običajno traja približno 5 minut. Tripsin nevtralizirajte z dodajanjem svežega gojišča, nato celično mešanico prenesite v epruveto in centrifugirajte. Po centrifugiranju odstranite supernatant, ponovno suspendirajte celično peleto v svežem gojišču in suspenzijo prenesite v nove bučke. G418 dodajte v gojišče, da dosežete končno koncentracijo 0,5 mg/ml

Gostota setve	2 do 4 x 10^4 celic/cm^2
Obnova tekočine	2 do 3-krat na teden

Odtaljevanje in gojenje

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KONTROLA KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Pasma / podvrsta	OsborneMendel

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Izjava o omejitvi odgovornosti

Naše celice so na voljo izključno za laboratorijske raziskave in vitro in niso namenjene za klinično ali diagnostično uporabo, niti jih ni dovoljeno dajati ljudem ali uporabljati v veterinarske namene. Uporabniki morajo upoštevati vse veljavne smernice in predpise za ravnanje in uporabo teh celic v raziskovalnem okolju.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Veljajo pogodbe s tretjimi strankami	Yes